

cobas[®] Cdiff

Nukleinhappetest kasutamiseks süsteemiga cobas[®] Liat[®]



Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

Rx Only

**cobas[®] Cdiff Nucleic acid test for use on the
cobas[®] Liat[®] System**

20 Tests

P/N: 07454945190

**cobas[®] Cdiff Positive and Negative Control Kit
for use on the cobas[®] Liat[®] System**

5 Sets

P/N: 07454970190

SISUKORD

Ettenähtud kasutus	4
Testi kokkuvõte ja selgitus	4
Taust: <i>C. difficile</i> tuvastamine.....	4
Testi selgitus.....	5
Protseduuri põhimõtted.....	5
Proovi ettevalmistamine.....	5
PCR-i amplifikatsioon ja süsteemiga TaqMan® tuvastamine.....	5
Selektiivne amplifikatsioon.....	5
Reaktiivid ja materjalid	6
Reaktiivid ja kontrollid cobas® Cdiff	6
Reaktiivide säilitamine ja käitlemine.....	8
Vajalikud lisamaterjalid.....	8
Valikulised materjalid.....	8
Vajalikud seadmed ja tarkvara, mida kaasas ei ole.....	8
Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded	9
Hoiatused ja ettevaatusabinõud.....	9
Hea laboritava.....	9
Saastumine.....	9
Terviklikkus.....	10
Utiliseerimine.....	10
Mahavoolamine ja puhastamine.....	10
Proovide võtmine, transportimine ja säilitamine.....	10
Proovide võtmine.....	10
Proovide transportimine, säilitamine ja stabiilsus.....	10
Testiprotseduur	11
„Add Lot“ (Lisa partii) töövoog.....	11
Proovi ülekandmise töövoog.....	11
cobas® Cdiff töövoog.....	11
Kasutusjuhend.....	12
„Add Lot“ (Lisa partii) protseduur.....	12
Proovi ülekandmine söötmesse cobas® PCR Media	14
cobas® Cdiff analüüsi tegemine kliiniliste proovidega.....	14
Täiendavate kontrollanalüüside tegemine.....	16

Tulemused	17
Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus	17
Positiivne kontroll.....	17
Negatiivne kontroll	17
Sisekontroll.....	17
Tulemuste tõlgendamine.....	18
Soovitav uuesti testimise protseduur.....	19
Meetodi piirangud.....	19
Toimivusnäitajate hindamine	20
Analüütiline tundlikkus.....	20
<i>C. difficile</i> genotüüpide määramine.....	20
Täpsus	21
Analüütiline spetsiifilisus	22
Segavad mõjud.....	24
Kliiniline toimivus kliinilisi proove kasutades	26
cobas® Cdiff testi korrelatsioon kultuuri suhtes.....	26
cobas® Cdiff korrelatsioon NAT-i võrdlustestiga	27
Kehtetute määr	27
Veakoodid	28
Lisateave	29
Testi olulisemad omadused.....	29
Sümbolid.....	30
Tehniline tugi.....	31
Tootja ja importija.....	31
Kaubamärgid ja patendid	31
Autoriõigus.....	31
Viited.....	32
Dokumendi redaktsioon	34

cobas® Cdiff nukleiinhapetest on mõeldud kasutamiseks süsteemiga cobas® Liat® tervishoiutöötajatele või väljaõppe saanud kasutajatele, kes oskavad süsteemi cobas® Liat® kasutada, patsiendi lähedal testimisel, laborivälises uuringukohas (POC) või kliinilistes laborites.

Ettenähtud kasutus

cobas® Cdiff nukleiinhapetest kasutamiseks süsteemiga cobas® Liat® on automatiseeritud kvalitatiivne *in vitro* diagnostiline test, mis kasutab reaalaja polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) toksigeense *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) toksiin B (*tcdB*) geeni tuvastamiseks formeerumata (vedelas või pehmes) roojaproovis patsientidel, kellel kahtlustatakse *C. difficile* infektsiooni (CDI). cobas® Cdiff nukleiinhapetest kasutamiseks süsteemiga cobas® Liat® on mõeldud inimestel CDI diagnoosimise abivahendiks koos kliiniliste ja epidemioloogiliste riskiteguritega.

Testi kokkuvõte ja selgitus

Taust: *C. difficile* tuvastamine

Clostridioides difficile (*C. difficile*) on grampositiivne anaeroobne spore moodustav batsill, mis tuvastati 1970. aastate lõpus antibiootikumidega seotud kõhulahtisuse ja pseudomembranoosse koliidi põhjustajana.^{1,2} *C. difficile* on kõige sagedamini teatatud nosokomiaalne patogeen³ ja arvatakse, et see vastutab 15% kuni 20% antibiootikumidega seotud kõhulahtisuse ja peaaegu kõigi antibiootikumidega seotud pseudomembranoosse koliidi juhtude eest.⁴ *C. difficile* infektsiooni (CDI) esinemissagedus on vähem kui kahe aastakümne jooksul neljakordistunud⁵ ning seda seostatakse raske haiguse ja suremusega.³ Esinemissageduse suurenemine on osaliselt seotud hüpervirulentsete tüvede tekkimisega, näiteks BI/027/Põhja-Ameerika pulsotüübi 1 (NAP1) ribotüüp. CDI riskirühmas on eakad ja hiljuti antibiootikume kasutanud haiglaravil olevad patsiendid, kuid CDI sagedus suureneb ka väljaspool haiglakeskkonda.^{3,6}

Infektsioonid kanduvad edasi spooride kaudu ja pärast toksigeense *C. difficile* kolonisatsiooni võivad isikud muutuda asümptomaatiliseks kandjaks või neil võib areneda jämesoole haigus. CDI kliinilised tunnused võivad ulatuda kergest kõhulahtisusest eluohtliku pseudomembranoosse koliidini, mida iseloomustavad kõhuvalu, äge kõhulahtisus ja süsteemsed sümptomid nagu palavik, anoreksia, iiveldus ning halb enesetunne. Hoolimata CDI esinemissageduse ja raskuse märkimisväärsest suurenemisest jäävad metronidasool või vankomütsiin valitud meditsiiniliseks raviks ägedate episoodide ja korduva infektsiooni korral.⁷

CDI diagnoositakse tavaliselt toksiini esinemisega väljaheiteproovides. Enamik *C. difficile* toksigeensetest tüvedest toodavad tavaliselt kahte valgulist eksotoksiini: toksiini A ja toksiini B.⁸ Väike protsent toksigeensetest tüvedest võib toota ainult toksiini B.⁹ Toksiini B toimel tsütopaatilise toime demonstreerimine rakkude monokihil on traditsiooniline „kuldstandardiks“.^{10,11} Väljaheite supernatanti võib inkubeerida otse rakkude monokihil, alternatiivselt võib väljaheitest saadud *C. difficile* isolaate enne supernatandi inkubeerimist rakkude monokihil kultiveerida rikastuspuljongis (toksigeenne kultuur). Mõlemad meetodid vajavad lõpliku tulemuse saamiseks vähemalt 48–72 tundi.

Väljaheite kultuur ei ole laialdaselt kasutusel ülalkirjeldatud protseduuri keerukuse ja pikema tulemuste saamise aja tõttu ning diagnoos saadakse sageli kas ensüümimmuunanalüüside (EIA) või DNA-põhiste testidega.^{3,12} Toksiini tuvastamiseks kasutatavaid immuunanalüüse kasutatakse laialdaselt, kuna need võivad anda positiivseid tulemusi vähem kui 4 tunni jooksul, kuid nende tundlikkus on kultuuriga võrreldes väiksem.^{12,13} Seevastu on teatatud, et *C. difficile* toksiini geeni tuvastamisel polümeraasi ahelreaktsiooniga (PCR) on suurem tundlikkus ja tulemuste saavutamise aeg on lühem kui kultuuril ja immuunanalüüsidel.^{3,14-17}

Infektsioonitõrjemeetmed hõlmavad antimikroobsete ainete mõistlikku kasutamist, ristinfektsiooni ennetamist ja juhtumite aktiivset jälgimist.¹⁸ Seega on suur vajadus väga tundliku ja kiire automatiseeritud *C. difficile* määramise järele. Molekulaarsed meetodid võimaldavad märgatavalt vähendada tuvastamisega, võimaldades seega antimikroobse ravi kiiret alustamist ja nakkustõrjemeetmete kiiret rakendamist.¹⁴⁻¹⁶ **cobas® Cdiff** nukleiinhapetest kasutamiseks süsteemiga **cobas® Liat®** on mõeldud *C. difficile* toksiooni B geeni kiireks molekulaaranalüüsiks formeerumata roojaproovides, mis on võetud CDI kahtlusega patsientidelt.

Testi selgitus

cobas® Cdiff nukleiinhapetest kasutamiseks süsteemiga **cobas® Liat®** (edaspidi: **cobas® Cdiff**) on kiirtest, mis automatiseerib täielikult proovi ettevalmistamise, PCR amplifikatsiooni ja sihtmärk-DNA järjestuste reaajas tuvastamise analüsaatoril **cobas® Liat®**. **cobas® Cdiff** koosneb ühekordselt kasutatavast **cobas® Cdiff** analüüsikatsutist, mis sisaldab nukleiinhapete puhastamise ja PCR-i reaktiive ning sisekontrolli (*Bacillus thuringiensis israelensis* ehk Bti). **cobas® Cdiff** analüüsikatsutis toimuvad proovide ettevalmistamise ja PCR-i protsessid. **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti on eraldiseisev, seega väheneb proovide ristasaastumise oht.

Protseduuri põhimõtted

Proovi ettevalmistamine

Roojaproovis olevad organismid lüüsitakse kaotroopse aine ja proteinaasiga K. Vabanenud nukleiinhapped, sealhulgas Bti sisekontrolli DNA, seonduvad magnetilised klaasiosakestega. Osakesed pestakse, seonduvad nukleiinhapped elueeritakse väikeses koguses puhvril ning segatakse seejärel põhisegu ja aktiveeriva kofaktoriga PCR-i reaktsiooni jaoks.

PCR-i amplifikatsioon ja süsteemiga TaqMan® tuvastamine

Kasutatav põhisegureaktiiv sisaldab nii *C. difficile* toksiooni B kui ka sisekontrolli suhtes spetsiifilisi praimeripaare ja sonde. Sihtmärk nukleiinhapetejärjestuste esinemise korral toimub termostabiilse DNA polümeraasi abil amplifikatsioon vastavate praimeritega ja saadakse PCR-i produktid (amplikonid). Need produktid tuvastatakse spetsiifiliste TaqMan®-i sondide abil, mis sisaldavad fluorestseeruvat reportervärvi ja kustutusvärvi. Tavaolukorras kustutusvärv summutab reportervärvi fluorestsentsi. Kuid PCR-i produktide esinemise korral hübridiseerub sond produktiga ja see lõhustatakse polümeraasi 5'-3'-nukleaasi aktiivsuse toimele, eraldades seeläbi reportervärvi ja kustutusvärvi. Selle reaktsiooni tulemusel emiteerub reportervärvist fluorestsentsi ning selle signaali registreerib reaajas iga PCR-i tsükli ajal analüsaator **cobas® Liat®**. Süsteemi **cobas® Liat®** tarkvara tõlgendab signaali ja väljastab lõplike tulemustena.


Selektiivne amplifikatsioon

Sihtnukleiinhapete selektiivne amplifikatsioon proovis saavutatakse **cobas® Cdiff** testis ensüümiga AmpErase (uratsiil-N-glükosülaas) ja deoksüüridiintrifosfaadiga (dUTP). AmpErase-ensüüm tunneb ära ja lõhub katalüütiliselt desoksüüridiini sisaldava DNA-ahelad¹⁹, jättes puutumata desoksütümidini sisaldava DNA. Looduslikus DNA-s desoksüüridiini ei leidu, aga desoksüüridiintrifosfaadi kasutamise tõttu Master Mix reaktiivi põhisegus ühe dNTP-na tümidintrifosfaadi asemel leidub seda alati amplikonis seetõttu sisaldab desoksüüridiini ainult amplikon. Desoksüüridiin võimaldab amplikonilisandi enne sihtmärk-DNA amplifikatsiooni AmpErase'i abil lõhkuda. Põhisegu reaktiivis sisalduv AmpErase-ensüüm katalüüsib desoksüüridiini sisaldava DNA lõhustamist desoksüüridiinjääkide juures, avades desoksüriboosahela C1-asendis. Amplikoni DNA ahel laguneb kuumutamisel esimeses termilise tsükli etapis põhisegu aluselise pH korral desoksüüridiini kohalt, muutes DNA mitteamplifitseeritavaks. AmpErase-ensüüm on inaktiivne temperatuuridel üle 55 °C, st termiliste tsükli etappides, ega löhu sihtamplikoni. On tõendatud, et **cobas® Cdiff** inaktiveerib igas PCR-is vähemalt 1 000 desoksüüridiini sisaldavat *C. difficile* amplikoni.

Reaktiivid ja materjalid

Reaktiivid ja kontrollid cobas® Cdiff

Tab. 1. cobas® Cdiff

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System		
Säilitage temperatuuril 2–8 °C 20 testi (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat® ülekandepipeti pakki (P/N 09329676001)		
cobas® Cdiff analüüsikatsutis olevad reaktiivid	Reaktiivi koostisained	Ohutussümbol ja hoiatus ^a
cobas® Liat® Cdiff sisekontroll	PBS Tween-80 0,01% säilitusaine ProClin® 300 Glütserool EDTA < 1% Bti põhimaterjal (inaktiveeritud)	 <p>ETTEVAATUST</p> <p>H302 + H332: Allaneelamisel või sissehingamisel kahjulik.</p> <p>H314: Põhjustab rasket nahasöövitust ja silmakahjustusi.</p> <p>H317: Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni.</p> <p>H334: Sissehingamisel võib põhjustada allergia- või astma sümptomeid või hingamisraskusi.</p> <p>H411: Mürgine veeorganismidele, pikaajaline toime.</p> <p>P261: Vältida tolmu/suitsu/gaasi/udu/auru/pihustatud aine sissehingamist.</p> <p>P273: Vältida sattumist keskkonda.</p> <p>P280: Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski/kuulmiskaitsevahendeid.</p> <p>P303 + P361 + P353: NAHALE (või juustele) SATTUMISE KORRAL: kõik saastunud rõivad viivitamata seljast võtta. Loputada nahka veega.</p> <p>P304 + P340 + P310: SISSEHINGAMISE KORRAL: toimetada isik värske õhu kätte ja hoida asendis, mis võimaldab kergesti hingata. Võtta viivitamata ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE/arstiga.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: SILMA SATTUMISE KORRAL: loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord. Võtta viivitamata ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE/arstiga.</p> <p>P342 + P311: Hingamisteede probleemide ilmnemise korral: võtta ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE/arstiga.</p> <p>P391: Mahavoolanud toode kokku koguda.</p> <p>EUH032: Kokkupuutel hapetega eraldub väga mürgine gaas.</p> <p>EUH210: Ohutuskaart nõudmisel kättesaadav.</p> <p>EUH208: Sisaldab segu: 5-kloro-2-metüül-4-isotiasoliin-3-oon ja 2-metüül-2H-isotiasool-3-oon (3:1). Võib kutsuda esile allergilise reaktsiooni.</p> <p>26172-54-3 2-metüül-2H-isotiasool-3-oonvesinikkloriid</p> <p>593-84-0 Guanidiintiotsüanaat</p> <p>9002-92-0 Polidokanool</p> <p>39450-01-6 Proteinaas, Tritirachium album'i seriinproteas</p>
cobas® Liat® proteinaas K	Tris-puhver EDTA Kaltsiumkloriid Kaltsiumatsetaat < 2,0% proteinaas K ^b Glütseriin	
Süsteemi cobas® Liat® magnetilised klaasiosakesed	Magnetilised klaasiosakesed Vesi	
cobas® Liat® lüüsipuhver	Naatriumtsitraat 3% polüdokanool ^b 42,6% guanidiintiotsüanaat ^b Ditiitritool	
cobas® Liat® pesupuhver	Naatriumtsitraatdihüdraat 0,05% N-metüülisotiasooloon-HCl	
cobas® Liat® elutsioonipuhver 1	Rekombinantne inimese seerumi albumiin Tris-HCl puhver 0,09% naatriumasiid	

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System		
Säilitage temperatuuril 2–8 °C 20 testi (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat® ülekandepipeti pakki (P/N 09329676001)		
cobas® Cdiff analüüsikatsutis olevad reaktiivid	Reaktiivi koostisained	Ohutussümbol ja hoiatus^a
cobas® Liat® Cdiff põhisegu 1	Tritsiinpuhver EDTA DMSO Kaaliumatsetaat Kaaliühüdrosiid < 0,01% senss ja antisenss <i>C. difficile</i> ja sisekontrolli praimereid < 0,01% fluorestsents-märgistatud <i>C. difficile</i> ja sisekontrolli sondid 0,09% naatriumasiid	
cobas® Liat® Cdiff põhisegu 2	DMSO Tween 20 < 0,19% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% oligonukleotiidi aptameere < 0,01% Z05 DNA polümeraasi (mikroobne) < 0,02% AmpErase-ensüümi (uratsiil-N-glükosülaas) (mikroobne) 0,09% naatriumasiid	
cobas® Liat® Cdiff kofaktor	Mangaanatsetaat Magneesiumatsetaat Veiseseerumi albumiin USA päritolu veiseplasmast 0,09% naatriumasiid	

^a Toote ohutusemärgised järgivad standardi EU GHS juhiseid.

^b Ohtlik aine või segu.

Tab. 2. **cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit for use on the cobas® Liat® System**

cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit for use on the cobas® Liat® System			
Säilitage temperatuuril 15–30 °C 5 komplekti (P/N 07454970190)			
Komplekti osad	Reaktiivi koostisained	Kogus komplektis	Ohutussümbol ja hoiatus
Cdiff (+) C (cobas® Liat® Cdiff positiivne kontroll)	Tris-puhver EDTA < 0,01% Poly rA RNA (sünteeiline) 0,05% naatriumasiid < 0,01% mittenakuslikku (mikroobset) plasmidset DNA-d, mis sisaldab <i>C. difficile</i> järjestust	5 viaali	P/K
BUF (-) C (cobas® Liat® negatiivne kontroll)	Tris-puhver EDTA 0,05% naatriumasiid < 0,01% Poly rA RNA (sünteeiline)	5 viaali	P/K

Reaktiivide säilitamine ja käitlemine

Tab. 3. Reaktiivide säilitamine ja käitlemine

Reaktiiv	Säilitamistemperatuur	Säilitamisaeg
cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System	2–8 °C	Stabiilne näidatud kõlblikkusajani
cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit for use on the cobas® Liat® System	15–30 °C	Stabiilne näidatud kõlblikkusajani

Märkus. Ärge külmutage reaktiive.

Ärge avage analüüsikatsuti vahetatud pakendit enne, kui kasutaja on testi tegemiseks valmis.

cobas® Liat®-e ülekandepipeti pakki võib pärast cobas® Cdiff analüüsikatsuti komplektist väljavõtmist hoida toatemperatuuril. Veenduge, et pipettide võtmiseks cobas® Liat®-e ülekandepipettide pakist kasutate puhtaid kindaid. Pärast vajaliku pipeti / vajalike pipettide väljavõtmist sulgege cobas® Liat®-e ülekandepipeti pakk kohe uuesti.

Reaktiivi aegumistähtaeg põhineb koordineeritud maailmaajal (UTC-l). Reaktiivi kohalikku aegumisaega saab tasaarvestada pluss või miinus 12 tundi sõltuvalt UTC-le vastavast kohalikust ajavööndist.

Vajalikud lisamaterjalid

Tab. 4. Vajalikud lisamaterjalid

Materjalid	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Ühekordselt kasutatavad talgivabad kindad	Kõik talgivabad ühekordselt kasutatavad kindad on sobivad.

Lisateavet eraldi müüdavate materjalide kohta küsige kohalikult Roche'i esindajalt.

Valikulised materjalid

Tab. 5. Valikulised materjalid

Materjalid	P/N
cobas® PCR-i asenduskorkide komplekt	07958056190

Lisateavet valikuliste materjalide kohta küsige kohalikult Roche'i esindajalt.

Vajalikud seadmed ja tarkvara, mida kaasas ei ole

Tab. 6. Vajalikud seadmed ja tarkvara, mida kaasas ei ole

Vajalikud seadmed ja tarkvara, ei ole kaasas
Analüsaator cobas® Liat® (P/N 07341920190) <ul style="list-style-type: none"> Sisaldab süsteemi cobas® Liat® tarkvara (Core) versiooni 3.3.0 või uuemat
cobas® Cdiff Script v1.1 või uuem

Lisateavet vajalike seadmete ja tarkvara kohta küsige kohalikult Roche'i esindajalt.

Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Nagu kõigi testiprotseduuride puhul, on selle analüüsi toimimise eelduseks hea laboritava. Testi suure analüütilise tundlikkuse tõttu tuleb komplekti reaktiivide, proovide ja amplifikatsioonisegude käsitlemisel olla saastumise vältimiseks ülimalt hoolikas.

- Kasutamiseks ainult *in vitro* diagnostikas.
- **cobas® Cdiff** nukleiinhapetest on mõeldud kasutamiseks süsteemiga **cobas® Liat®** tervishoiutöötajatele või väljaõppe saanud kasutajatele, kes oskavad süsteemi **cobas® Liat®** kasutada, laborivälises uuringukohas (POC) või kliinilistes laborites.
- Vältige reaktiivide ja proovide saastumist mikroobide ja DNA-ga.
- Vahetage kindaid enne ülekandepipeti eemaldamist **cobas® Liat®** ülekandepipeti pakist ja pärast iga proovi või kontrolli käitlemist, et vältida reaktiivide ja pipeti saastumist.
- Ohutuskaardid (SDS) on saadaval kohalikus Roche'i esindajalt.
- **cobas® Liat®** lüüsipuhver (LYS reaktiiv) sisaldab guanidiintiotsüanaati. Ärge lubage otsest kokkupuudet guanidiintiotsüanaadi ja naatriumhüpokloriti (valgendi) või muude väga reaktiivsete ainete, nt aluste või hapete vahel. Nende segunemisel võib tekkida väga mürgine gaas.
- **cobas® Liat®** elutsioonipuhver 1 (EB), **cobas® Liat® Cdiff** põhisegu 1 (Cdiff MMX-1), **cobas® Liat® Cdiff** põhisegu 2 (Cdiff MMX-2), **cobas® Liat® Cdiff** kofaktor (kofaktor), BUF (-) C ja Cdiff (+) C sisaldavad naatriumasiidi.
- Täiendavad hoiatused, ettevaatusabinõud ja toimingud analüsaatori **cobas® Liat®** saastumisohu vähendamiseks leiate selle süsteemi **cobas® Liat®** kasutusjuhendist.
- EL-s: Teavitage selle analüüsi kasutamisel toimunud tõsistest vahejuhtumitest kohalikku pädevat asutust.

Hea laboritava

- Suu abil mitte pipeteerida.
- Ärge sööge, jooge ega suitsetage tööpiirkondades.
- Pärast proovide ja komplektireaktiivide käsitlemist tuleb hoolikalt käsi pesta.
- Töökoha eeskirjade järgi tuleb kõigi reaktiivide käsitlemisel kanda kaitseprille, laborikitlit ja ühekordselt kasutatavaid kindaid. Vältige materjalide kokkupuudet naha, silmade ja limaskestadega. Kokkupuute korral tuleb kokkupuutekohta kohe rohke veega pesta. Vastasel korral võivad tekkida põletushaavad. Mahavoolamise korral tuleb mahavoolanud kogus enne puhtakspühkimist veega lahjendada.
- AmpErase-ensüümi lisamine **cobas® Liat® Cdiff** põhisegule võimaldab sihtmärk-DNA-d selektiivselt amplifitseerida. Siiski on reaktiivide ja amplifitseerimissegude saastumise vältimiseks vaja järgida häid laboritavasid ja siinses kasutusjuhendis toodud juhiseid.
- Kõik labori tööpinnad tuleb põhjalikult puhastada ja desinfitseerida destilleeritud või deioniseeritud vees värskelt valmistatud 0,5% naatriumhüpokloriti lahusega (lahjendada olmepleegitusvalgendi vahekorras 1:10). Seejärel tuleb pind üle pühkida 70% etanooliga.

Saastumine

- Kindaid tuleb kanda ja vahetada enne **cobas® Liat®** ülekandepipeti eemaldamist **cobas® Liat®** ülekandepipeti pakendist, proovide käsitlemise vahel ja **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti või kontrollvialide käsitlemise vahel, et vältida saastumist. Proovide ja kontrollide käitlemisel tuleb vältida kinnaste saastumist. Proovide ja komplektireaktiivide käsitlemisel tuleb kanda silmade kaitset, laborikindaid ja -kitlit.

- Vältige reaktiivide saastumist mikroobide ja ribonukleaasmaterjaliga.
- Juhul, kui proovide käsitlemise käigus ei kontrollita piisavalt nende ristsaastumist, võib test anda valepositiivseid tulemusi.
- Proove tuleb käidelda nakkusohtlikuna ja järgida tuleb laboriohutuseeskirju, näiteks suuniseid, mis on esitatud publikatsioonis „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“²⁰ ning Kliiniliste ja Laboratoorsete Standardite Instituudi (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) dokumendis M29-A4.²¹

Terviklikkus

- Ärge kasutage komplekte pärast kõlblikkusaja lõppu.
- Reaktiive mitte kokku valada.
- Ärge kasutage kahjustatud **cobas**® Cdiff analüüsikatsutit ega **cobas**® Cdiff analüüsikatsutit, mis on pärast fooliumpakendi eemaldamist maha kukkunud.
- Ärge kasutage **cobas**® Cdiff analüüsikatsuteid korduvalt. Kui **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti ei ole oma ümbrises või kui proovikatsuti hoidik sisaldab juba vedelikku, siis ÄRGE seda katsutit kasutage.
- Kõiki seadmeid tuleb hoida nõuetekohaselt tootja juhiste järgi.
- Kõiki reaktiivikomplekte tuleb säilitada nõuetekohaselt. Vaadake Tab. 3.

Utiliseerimine

- **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti tuleb kõrvaldada bioloogiliselt ohtlike jäätmete konteineris kooskõlas kohalike keskkonnatervise ja -ohutuse standarditega.
- **cobas**® Cdiff reaktiivid ja kontrollid sisaldavad naatriumasiidi (vt „Hoiatused ja ettevaatusabinõud“). Naatriumasiid võib reageerida pliist ja vasest torustikuga, moodustades plahvatusohtlike metalliasiide. Naatriumasiidi sisaldavate lahuste alla valamisel labori kraanikausist tuleb asiidi kogunemise vältimiseks torusid loputada suure koguse külma veega.
- Kasutamata analüüsikatsutid ja jäägid tuleb kõrvaldada kooskõlas föderaalsete, riiklike ja kohalike nõuetega.

Mahavoolamine ja puhastamine

- Kui analüsaatorile **cobas**® Liat® satub pritsmeid, järgige süsteemi **cobas**® Liat® kasutusjuhendi juhiseid.

Proovide võtmine, transportimine ja säilitamine

Kõiki proove tuleb käidelda potentsiaalselt nakkusohtlikena.

Proovide võtmine

cobas® Cdiff analüüsi tuleb kasutada ainult **osaliselt formeerunud või formeerumata roojaproovidega**. See on määratletud kui roojaproov, mis võtab oma proovinõu kuju. Koguge roojaproov puhtasse, kuiva ja kasutamata proovinõusse, järgides oma asutuse standardseid tööprotseduure.

Proovide transportimine, säilitamine ja stabiilsus

Formeerumata roojaproovid on stabiilsed 2 päeva toatemperatuuril (2–30 °C) või 9 päeva temperatuuril 2–8 °C enne söötmesse **cobas**® PCR Media viimist ja analüüsimist süsteemiga **cobas**® Liat® (seda tõestati analüüsides proove pärast järjestikust säilitamist 2 päeva temperatuuril 30 ± 1 °C, millele järgnes säilitamine 7 päeva temperatuuril 2–8 °C).

Söötmes **cobas**® PCR Media resuspendeeritud roojaproov on stabiilne 7 päeva temperatuuril 2–30 °C enne analüüsimist süsteemiga **cobas**® Liat®.

C. difficile proovide transportimisel tuleb järgida föderalseid, riiklikke ja kohalikke nakkusohtlike materjalide transpordi nõudeid.

Testiprotseduur

„Add Lot“ (Lisa partii) töövoog

Joonis 1. „Add Lot“ (Lisa partii) töövoog

1	Käivitage süsteem ja logige sisse
2	Eemaldage kontrollid, analüüsikatsutid ja ülekandepipetid hoiualalt
3	Tehke menüüs „Assay“ (Analüüs) valik „New Lot“ (Uus partii)
4	Skannige pakendi infolehe ID vötkoodikaardil olev vötkood
5	Skannige ja analüüsige negatiivne kontroll
6	Skannige ja analüüsige positiivne kontroll

Proovi ülekandmise töövoog

Joonis 2. Proovi ülekandmise töövoog

1	Kastke tampoon roojaproovi
2	Asetage inokuleeritud tampoon cobas ® PCR Media katsutisse
3	Murdke tamponi vars hallist sälgukohast
4	Sulgege katsuti korgiga ja keerutage seda vähemalt 5 korda

cobas® Cdiff töövoog

Joonis 3. **cobas**® Cdiff töövoog

1	Käivitage süsteem ja logige sisse
2	Eemaldage proovid, analüüsikatsutid ja ülekandepipetid hoiualalt
3	Valige peamenüüs „Run Assay“ (Käivita analüüs)
4	Skannige cobas ® Cdiff analüüsikatsuti vötkood
5	Skannige või sisestage proovi ID
6	Lisage proov ülekandepipetti kasutades cobas ® Cdiff analüüsikatsutisse ja sulgege katsuti
7	Skannige uuesti cobas ® Cdiff analüüsikatsuti vötkood
8	Käivitage töötsükli sisestades cobas ® Cdiff analüüsikatsuti
9	Vaadake tulemused üle*
10	Võtke seadmest kasutatud cobas ® Cdiff analüüsikatsutid välja ja visake ära

* Lisateavet tulemuste DMS-i ja LIS-i üleslaadimise kohta leiate siinsest **cobas**® Liat® süsteemi kasutusjuhendist.

Kasutusjuhend

„Add Lot“ (Lisa partii) protseduur

Enne uue cobas® Cdiff analüüsikatsutite partii kasutamist tuleb analüsaatoris cobas® Liat® teha partii lisamise toiming, et valideerida cobas® Cdiff analüüsikatsutite partii teie töökohas. Protsess hõlmab negatiivse ja Cdiff positiivse kontrolliproovi töötlemist.

Materjalid, mis on vajalikud „Add Lot“ (Lisa partii) toiminguks

- cobas® Cdiff nukleiinhapetestit uus partii kasutamiseks süsteemiga cobas® Liat® (kaks analüüsikatsutit)
- 2 ülekandepipetti cobas® Liat® ülekandepipeti pakendist
- Pakendi infoleht ID-vöötкодикаardiga cobas® Cdiff analüüsikatsutite uue partii jaoks
- cobas® Liat® Cdiff positiivne kontroll
- cobas® Liat® negatiivne kontroll
- Vöötкодикаart cobas® Liat® Cdiff positiivse kontrolli ja cobas® Liat® negatiivse kontrolli jaoks

Märkus. Üksikasjalikud kasutusjuhised leiate süsteemi cobas® Liat® kasutusjuhendist.

Protseduur

1. Vajutage analüsaatori cobas® Liat® käivitamiseks toite sisse/välja lülitamise nuppu.
2. Valige analüsaatori cobas® Liat® kuval **Login** (Logi sisse).
3. Sisestage küsimisel kasutajanimi, valige **Enter** (Sisesta).
4. Sisestage küsimisel kasutaja salasõna, valige **Enter** (Sisesta).

Märkus. Teil võidakse paluda kinnitada, et olete kasutusjuhendi (s.o süsteemi cobas® Liat® kasutusjuhendi) läbi lugenud.

5. Valige analüsaatori cobas® Liat® põhimenüüs **Assay Menu**.
6. Valige loendi lõpus **New Lot**.
7. Kui kuvatakse **Scan the Insert ID** (Skanni infolehe ID), valige **Scan** (Skanni) ja skannige cobas® Cdiff pakendi infolehe ID vöötкодикаart. Veenduge, et punane skannimistuli on kogu vöötкодиди kohal.

Märkus. Teilt võidakse küsida kinnitust selle kohta, et olete pakendi infolehe või kasutusjuhendi läbi lugenud.

8. Kui kuvatakse **Scan Negative Control ID** (Skanni negatiivse kontrolli ID), valige **Scan** (Skanni) ja skannige negatiivse kontrolliproovi vöötкодиди, mille leiate kontrollkomplektist. Veenduge, et punane skannimistuli on kogu vöötкодиди kohal. Seejärel kuvab analüsaator cobas® Liat® teate **Add negative control & scan tube ID** (Lisage negatiivne kontroll ja skannige katsuti ID).
9. Hoidke cobas® Liat® negatiivse kontrolli katsutit püstiasendis ja koputage kergelt tasasele pinnale vedeliku kogumiseks katsuti põhja.
10. Avage cobas® Cdiff analüüsikatsuti fooliumpakend (lisatavast partiist) ja võtke analüüsikatsuti välja.
11. Kasutage kotis olevat cobas® Liat® ülekandepipetti cobas® Liat® negatiivse kontrolli lisamiseks cobas® Cdiff analüüsikatsutisse. Pigistage tugevalt pipeti pirni, kuni pirn on täiesti lame, seejärel sisestage pipeti ots vedelikku ja tõmmake proov pipetti, vabastades aeglaselt pirni.

Märkus. Kasutage kontrollide ja proovide ülekandmiseks cobas® Cdiff analüüsikatsutisse ainult cobas® Liat® pakendis olevat ülekandepipetti.

12. Eemaldage ettevaatlikult **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti kork ja sisestage pipett katsutisse. Pange pipeti ots avatud segmendi põhja lähedale.
13. Pigistage aeglaselt pipeti pirni sisu tühjendamiseks **cobas® Cdiff** analüüsikatsutisse. Vältige mullide tekitamist proovis. Ärge vabastage pipeti pirni, kui pipett on veel **cobas® Cdiff** analüüsikatsutis.

Märkus. Ärge torgake cobas® Cdiff analüüsikatsutit ega proovikambri põhjas olevat tihendit läbi. Kui kumbki neist on kahjustatud, visake ära nii cobas® Cdiff analüüsikatsuti kui ka ülekandepipett ning alustage testimist uue cobas® Cdiff analüüsikatsuti ja pipetiga.

14. Keerake kork **cobas® Cdiff** analüüsikatsutile peale tagasi. Visake ülekandepipett ära.
15. Valige **Scan** (Skanni) ja pange **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti horisontaalselt lauale võotkoodilugeri alla nii, et punane skannimistuli on kogu võotkoodi kohal. Pärast võotkoodi lugemist avaneb analüsaatori **cobas® Liat®** peal olev analüüsikatsuti sisestusava automaatselt.
16. Eemaldage **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti hülss ja sisestage kohe **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti analüsaatorisse **cobas® Liat®**, kuni analüüsikatsuti kohale klõpsatab.

Märkus. cobas® Cdiff analüüsikatsutit on võimalik sisestada ainult ühel viisil – kui kork on peal, peab cobas® Cdiff analüüsikatsuti sooneline külg olema vasakul.

17. Kui analüüsikatsutit ei sisestata enne ava sulgemist, skannige veel kord **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti võotkood ja sisestage **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti uuesti. Kui **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti on nõuetekohaselt sisestatud, siis sulgeb analüsaator **cobas® Liat®** automaatselt ukse ja alustab analüüsi.
18. Analüüsi läbiviimise ajal kuvab analüsaator **cobas® Liat®** tööseeria oleku ja selle lõpuni jäänud aja. Kui testi lõppemisel kuvatakse teade **Negative control result accepted** (Negatiivse kontrolli tulemus on heaks kiidetud), valige **Confirm** (Kinnita). Kui tulemus lükatakse tagasi, korrake negatiivse kontrolli tööseeriat (etapid 8–18). Kui korduv kontrolli töösükkel ei anna oodatud tulemusi, pöörduge Roche'i kohaliku esindaja poole.
19. Kui analüüs on lõpetatud, kuvab analüsaator **cobas® Liat®** teate **Remove the assay tube slowly and carefully** (Eemaldage analüüsikatsuti aeglaselt ja ettevaatlikult) ja avab automaatselt analüüsikatsuti sisestusava. Tõstke **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti aeglaselt analüsaatorist **cobas® Liat®** välja. Visake kasutatud **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti bioloogiliselt ohtlike jäätmete mahutisse.
20. Valige **Back** (Tagasi) samas seadmes **cobas® Liat® Cdiff** positiivse kontrolltestiga jätkamiseks.
21. Samamoodi järgige etappe 8–17 **cobas® Liat® Cdiff** positiivse kontrolli asemel **cobas® Liat®** negatiivse kontrolliga.
22. Kui töötluse lõpus kuvatakse teade „**Positive control result accepted. Lot ... added**“ (Positiivse kontrolli tulemus heaks kiidetud. Partii ... lisatud), valige **Confirm** (Kinnita) ja seejärel valige **Back** (Tagasi) põhimenüüsse naasmiseks. Kui tulemus lükatakse tagasi, korrake **cobas® Liat® Cdiff** positiivse kontrolli analüüsimist. Kui korduv kontrolli töösükkel ei anna oodatud tulemusi, pöörduge Roche'i kohaliku esindaja poole.
23. Korrake 19. sammu.
24. Uue partii lisamise kinnitamiseks valige **Assay Menu** (Analüüsi menüü).

Kui partii lisamine on ühes analüsaatoris lõpule viidud, kasutage menüüd „Tools“ (Tööriistad) analüsaatoril **cobas® Liat** USB võtmeaga, et kanda partii teave üle teistesse teie asutuses kasutatavatesse analüsaatoritesse. See võimaldab teistel

analüsaatoritel kasutada seda **cobas® Cdiff** analüüsi, ilma et igas analüsaatoris tuleks teha partii lisamise toiming. Järgige süsteemi **cobas® Liat®** kasutusjuhendis olevaid juhiseid ja valige analüsaatoril „Export assay lots“ (Ekspordi analüüsi partiid), millel „Add Lot“ (Lisa partii) tehti. Seejärel tehke protseduur „Import assay lots“ (Impordi analüüsi partiid) oma asutuse kõigi teiste analüsaatorite jaoks.

Proovi ülekandmine söötmesse **cobas® PCR Media**

1. Roojaproov tuleks viia **cobas® PCR Media** katsutisse ja testida jaotises „Proovide kogumine, transportimine ja säilitamine“ toodud aja jooksul. Algset roojaproovi nimetatakse ka „primaarseks prooviks“ ja rooja suspensiooni söötmes **cobas® PCR Media** (vt allpool toodud etappe) nimetatakse selles dokumendis ka „sekundaarseks prooviks“.
2. Kasutage komplektis **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** olevat tampooni roojaproovi ülekandmiseks. Ilma rooja proovinõu külge puutumata pange tampoon täielikult roojaproovi, kuni aheneva otsa lõpuni.
3. Kohe eemaldage ja asetage inokuleeritud tampoon **cobas® PCR Media** katsutisse. Ärge analüüsige proovi, kui tampooni otsas pole sisestamiseks piisavalt rooja.
4. Murdke tampooni vars hallist sälgukohast, surudes seda **cobas® PCR Media** katsuti külge vastu.
5. Pange katsutile kork peale ja keerutage seda vähemalt 5 korda.

Märkus. *cobas® Cdiff on valideeritud kasutamiseks komplektiga cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit. Muud seadmed või söötmetüübid ei ole valideeritud kasutamiseks cobas® Cdiff analüüsiga.*

Märkus. *Söötmes cobas® PCR Media olevate roojaproovide suspensioonide ristsaastumise vältimiseks tuleb kasutada cobas® PCR Media katsutitel muud värvi korke (värvituid, vt jaotist „Valikulised materjalid“), et proovid nendega pärast töötlemist katta.*

Märkus. *cobas® PCR Media katsuti sisaldab piisavas koguses söödud cobas® PCR Media rooja suspensioonide mitmekordseks analüüsiks süsteemil cobas® Liat®. Minimaalne cobas® Cdiff testi töötluseks vajalik rooja suspensiooni kogus on 0,2 ml.*

cobas® Cdiff analüüsi tegemine kliiniliste proovidega

Materjal, mis on vajalik **cobas® Cdiff** analüüsi läbiviimiseks

- **cobas® Cdiff** analüüsikatsuti **cobas® Cdiff** analüüsi fooliumpakendist
- Ülekandepipett **cobas® Liat®** ülekandepipeti pakendist
- Roojaproovid, mis kantakse ja resuspendeeritakse söötmesse **cobas® PCR Media** (vt „Proovi ülekandmine söötmesse **cobas® PCR Media**“)

Protseduur

1. Veenduge, et analüsaator **cobas® Liat®** oleks sisse lülitatud.
2. Valige analüsaatori **cobas® Liat®** kuval **Login** (Logi sisse).
3. Sisestage küsimisel kasutajanimi, valige **Enter** (Sisesta).
4. Sisestage küsimisel kasutaja salasõna, valige **Enter** (Sisesta).

Märkus. *Teil võidakse paluda kinnitada, et olete kasutusjuhendi (s.o süsteemi **cobas® Liat®** kasutusjuhendi) läbi lugenud.*

5. Valige peamenüüs **Run Assay** (Käivita analüüs).

6. Avage **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti pakend ja võtke analüüsikatsuti välja. Kui kuvatakse **Scan Tube ID** (Skanni katsuti ID), valige **Scan** (Skanni) ja pange **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti horisontaalselt lauale vöotkoodilugeri alla nii, et punane skannimistuli on kogu vöotkoodi kohal.
7. Kui kuvatakse **Scan sample ID** (Skanni proovi ID), valige proovi vöotkoodi skannimiseks **Scan** (Skanni). Kui proovi ei õnnestu skannida, valige proovi ID käsitsi sisestamiseks **Enter** (Sisesta).

Märkus. *Kui analüsaatori konfiguratsiooni puhul on vajalik patsiendi andmete kinnitamine, valige nupp „Confirm“ (Kinnita).*

8. Kui seda palutakse teha, lisage proov **cobas**® Cdiff analüüsikatsutisse.
9. Kasutage ülekandepipetti **cobas**® Liat® ülekandepipeti pakendist sekundaarse proovi ülekandmiseks. Pigistage tugevalt pipeti pirni, kuni pirn on täiesti lame, seejärel sisestage pipeti ots vedelikku ja tõmmake proov pipetti, vabastades aeglaselt pirni.

Märkus. *Enne ülekandepipeti eemaldamist cobas® Liat® ülekandepipeti pakendist vahetage kindad, et vältida pipeti pakendi saastumist.*

10. Eemaldage ettevaatlikult **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti kork ja sisestage pipett katsutisse. Pange pipeti ots avatud segmendi põhja lähedale.
11. Pigistage aeglaselt pipeti pirni sisu tühjendamiseks **cobas**® Cdiff analüüsikatsutisse. Ärge vabastage pipeti pirni, kui pipett on veel **cobas**® Cdiff analüüsikatsutis.
12. Sulgege **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti uuesti korgiga ja visake ülekandepipett ära.

Märkus. *Vältige kinnaste, seadmete ja tööpindade ristsaastumist pipetti jäänud jääkidega.*

13. Valige **Scan** (Skanni) ja skannige sama **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti vöotkood uuesti. Analüsaatori **cobas**® Liat® peal olev analüüsikatsuti sisestusava avaneb automaatselt.
14. Eemaldage **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti hülss ja sisestage kohe **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti analüsaatorisse **cobas**® Liat®, kuni analüüsikatsuti kohale klõpsatab.

Märkus. *cobas® Cdiff analüüsikatsutit on võimalik sisestada ainult ühel viisil – kui kork on peal, peab cobas® Cdiff analüüsikatsuti sooneline külg olema vasakul.*

15. Kui analüüsikatsutit ei sisestata enne ava sulgemist, skannige veel kord **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti vöotkood ja sisestage **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti uuesti. Kui **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti on nõuetekohaselt sisestatud, siis sulgeb analüsaator **cobas**® Liat® automaatselt ukse ja alustab analüüsi.
16. Analüüsi läbiviimise ajal kuvab analüsaator **cobas**® Liat® tööseeria oleku ja selle lõpuni jäänud aja. Kui analüüs on lõpetatud, kuvab analüsaator **cobas**® Liat® teate **Remove the assay tube slowly and carefully** (Eemaldage analüüsikatsuti aeglaselt ja ettevaatlikult) ja avab automaatselt analüüsikatsuti sisestusava. Tõstke **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti aeglaselt analüsaatorist **cobas**® Liat® välja. Visake kasutatud **cobas**® Cdiff analüüsikatsuti bioloogiliselt ohtlike jäätmete mahutisse.
17. Tulemuste aruande nägemiseks valige **Report** (Aruanne). Kui on kohaldatav, valige aruande printimiseks **Print** (Prindi).
18. Järgmise analüüsi läbiviimiseks valige peamenüüsse tagasi minemiseks **Back** (Tagasi) ja seejärel **Main** (Peamenüü).

Täiendavate kontrollanalüüside tegemine

Kohalike, riiklike, föderaalsete ja/või akrediteerivate organisatsioonide kehtivate nõuete kohaselt võib teha täiendavaid kontrollseeriaid **cobas**® Cdiff analüüsikatsutite partiiga, mis on juba „Add Lot“ (Lisa partii) protseduuri kaudu lisatud. Nende seeriade läbiviimiseks kasutage süsteemiga **cobas**® Liat® kasutamiseks mõeldud positiivse ja negatiivse kontrolli komplekti **cobas**® Cdiff.

Materjalid, mida on vaja täiendavateks kontrollseeriateks

- **cobas**® Cdiff analüüsikatsutid ja ülekandepipetid
- **cobas**® Liat® Cdiff positiivne kontroll ja/või **cobas**® Liat® negatiivne kontroll
- Asjakohased vöotkoodid **cobas**® Liat Cdiff positiivse kontrolli ja/või **cobas**® Liat® negatiivse kontrolli jaoks

Protseduur

Täiendavate kontrollseeriade tegemiseks kasutage protseduuri, mis on toodud jaotises „**cobas**® Cdiff analüüsi tegemine kliinilistel proovidel“. Veenduge, et kasutate 7. etapis proovi ID vöotkoodi skannimiseks kontrollide vöotkoode, mis on kaasas **cobas**® Cdiff positiivse ja negatiivse kontrolli komplektiga. **cobas**® Cdiff tulemuste tõlgendamine täiendavate Cdiff positiivsete ja negatiivsete kontrollseeriade korral on toodud Tab. 9 ja Tab. 10 jaotises „Tulemuste tõlgendamine“. Kaasolevatest kontrollvöotkoodidest erinevate vöotkoodide kasutamine võib anda valesid kontrolli tulemusi.

Tulemused

Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus

Ühte cobas® Liat® Cdiff positiivset kontrolli ja ühte cobas® Liat® negatiivset kontrolli töödeldakse eelkirjeldatud „Add Lot“ (Lisa partii) protseduuri ajal. Uue partii cobas® Cdiff analüüsikatsutite valideerimisel seadmes tuleb nii positiivse kui ka negatiivse kontrolli jaoks saada kehtivad tulemused. Peale „Add Lot“ (Lisa partii) protseduuri võib teha täiendavaid kontrollseeriaid. Lisateavet saab kasutusjuhendi jaotisest „Täiendavate kontrollanalüüside tegemine“.

cobas® Liat® Cdiff sisekontroll on lisatud igasse cobas® Cdiff analüüsikatsutisse ja seda töödeldakse koos iga prooviga kogu analüüsi töövoos jooksul.

Positiivne kontroll

cobas® Liat® Cdiff positiivne kontroll sisaldab mittenakkuslikku DNA plasmidi *C. difficile* sihtjärjestusega. cobas® Liat® Cdiff positiivne kontroll kinnitab reaktiivide terviklikkuse cobas® Cdiff analüüsikatsutis ja analüsaatori cobas® Liat® korrektse toimimise. Kui cobas® Liat® Cdiff positiivse kontrolli tulemused on sageli kehtetud, võtke abi saamiseks ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.

Negatiivne kontroll

cobas® Liat® negatiivne kontroll ei sisalda sihtmärki ja jälgib võimalikku saastumist töövoos või keskkonnas. Kui cobas® Liat® negatiivse kontrolli tulemused on sageli kehtetud, võtke abi saamiseks ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.

Sisekontroll

Analüüsikatsuti sisaldab tervet organismi sisekontrolli (Bti) ja see lisatakse automaatselt kõikidele proovidele proovi ettevalmistamise alguses. cobas® Liat® Cdiff sisekontroll on keemiliselt inaktiveeritud bakter, mis sisaldub igas cobas® Cdiff analüüsikatsutis ja mida töödeldakse koos iga prooviga. Sisekontroll kontrollib sihtmärgiks olevate bakterite adekvaatset töötlemist testi kõikides etappides ning jälgib inhibiitorite esinemist proovide ettevalmistamise ja PCR-i ajal. cobas® Liat® Cdiff sisekontroll peaks negatiivse kontrolli korral olema positiivne ja võib Cdiff positiivse proovi korral olla positiivne või negatiivne.

Tulemuste tõlgendamine

Märkus. Kogu proovi ja kontrolli töötuse valideerimise määrab süsteem cobas® Liat®.

Tulemuste tõlgendamine „Add Lot“ (Lisa partii) protseduuri töötuse korral on toodud Tab. 7.

Tab. 7. cobas® Cdiff tulemuste tõlgendamine „Add Lot“ (Lisa partii) protseduuri töötuse korral

Analüsaatori cobas® Liat® kuva	Tulemuste aruande väljaprint ja tõlgendamine
Negative Control Valid	Negative Control Valid Kontroll on <i>C. difficile</i> DNA suhtes negatiivne.
Negative Control Invalid. Repeat Run	Negative Control Invalid Tulemus on kehtetu. Kehtivate tulemuste saamiseks tuleb negatiivset kontrolli uuesti analüüsida. Korrake tööseeriat.
Positive Control Valid	Positive Control Valid Kontroll on <i>C. difficile</i> DNA suhtes positiivne.
Positive Control Invalid. Repeat Run	Positive Control Invalid Tulemus on kehtetu. Kehtiva tulemuse saamiseks tuleb positiivset kontrolli uuesti analüüsida. Korrake tööseeriat.

Proovide tulemuste tõlgendamine on toodud Tab. 8.

Tab. 8. cobas® Cdiff tulemuste tõlgendamine kliiniliste proovide korral

Analüsaatori cobas® Liat® kuva	Tulemuste aruande väljaprint ja tõlgendamine
Cdiff Detected	Cdiff Detected Proov on <i>C. difficile</i> DNA suhtes positiivne.
Cdiff Not Detected	Cdiff Not Detected* Proov on <i>C. difficile</i> DNA suhtes negatiivne või selle esinemisel ei ole seda võimalik tuvastada.
Assay Invalid	Assay Invalid** Tulemus on kehtetu. Kehtiva tulemuse saamiseks tuleb esialgset proovi uuesti analüüsida. Vt „Soovitav uuesti analüüsimise protseduur“.
Assay Aborted by User	Assay Aborted by User Kasutaja on töösükli katkestatud. Kehtiva tulemuse saamiseks tuleb esialgset proovi uuesti analüüsida. Vt „Soovitav uuesti analüüsimise protseduur“.
Assay Aborted by System	Assay Aborted by System Süsteem on tööseeria katkestatud. Kehtiva tulemuse saamiseks tuleb esialgset proovi uuesti analüüsida. Vt „Soovitav uuesti analüüsimise protseduur“.

* Negatiivne tulemus ei välista *C. difficile* esinemist, kuna tulemused sõltuvad õigest proovi kogumisest, inhibiitorite juuresolekust ja avastamiseks piisava DNA koguse olemasolust.

** Kehtetuid tulemusi võib saada, kui proov sisaldab liiga palju roojas leiduvaid või segavaid aineid, mis takistavad nukleiinhappe sihtmärgi ekstraheerimist ja/või amplifikatsiooni ning tuvastamist. Lisateavet teadaolevate segavate ainete kohta vt jaotisest „Meetodi piirangud“. Ebapiisava proovi koguse korral ei pruugi tulemused olla õiged. cobas® Cdiff jaoks vajalik minimaalne rooja/söötme cobas® PCR Media suspensiooni kogus on 0,2 ml.

Tulemuste tõlgendamine täiendavate kontrollide töötlemisel pärast „Add Lot“ (Lisa partii) protseduuri on toodud Tab. 9 ja Tab. 10.

Tab. 9. cobas® Cdiff tulemuste tõlgendamine positiivse kontrolli töötlemise korral

Analüsaatori cobas® Liat® kuva	Tulemuste aruande väljaprint ja tõlgendamine
Positive Control Valid	Positive Control Valid Kontroll on <i>C. difficile</i> DNA suhtes positiivne.
Positive Control Invalid	Positive Control Invalid Tulemus on kehtetu. Kehtiva tulemuse saamiseks tuleb positiivset kontrolli uuesti analüüsida. Korra ke tõõseeriat.

Tab. 10. cobas® Cdiff tulemuste tõlgendamine negatiivse kontrolli töötlemise korral

Analüsaatori cobas® Liat® kuva	Tulemuste aruande väljaprint ja tõlgendamine
Negative Control Valid	Negative Control Valid Kontroll on <i>C. difficile</i> DNA suhtes negatiivne.
Negative Control Invalid	Negative Control Invalid Tulemus on kehtetu. Kehtivate tulemuste saamiseks tuleb negatiivset kontrolli uuesti analüüsida. Korra ke tõõseeriat.

Soovitav uuesti testimise protseduur

Kehtetuid ja ebaõnnestunud/katkestatud töötusi võib korrata ühe korra, kasutades sama sekundaarset proovi. Kui korduskatseseeria on endiselt kehtetu, võib primaarsest roojaproovist valmistada uue sekundaarse proovi. Alternatiivselt võib võimaluse korral võtta ka uue primaarse proovi, et cobas® Cdiff analüüs uuesti läbi viia.

Meetodi piirangud

1. cobas® Cdiff on valideeritud kasutamiseks ainult formeerumata või osaliselt formeerunud roojaproovidega, mis on viidud cobas® PCR Media katsutisse siinse kasutusjuhend dokumendi (nimetatakse ka pakendi infoleheks) kohaselt.
2. Tulemuste usaldusväärsus sõltub proovide võtmise, transportimise, säilitamise ja töötlemise kvaliteedist. Järgige siinises cobas® Cdiff kasutusjuhiste dokumendis ja süsteemi cobas® Liat® kasutusjuhendis toodud protseduure.
3. *C. difficile* DNA tuvastamine sõltub organismide arvust proovis ning seda võivad mõjutada proovivõtmise/töötlemise meetodid, hospitaliseerimise ajalugu, antibiootikumravi režiim ja *C. difficile* tüvi.
4. Erinevate ainete segav mõju võib põhjustada valenegatiivseid või kehtetuid tulemusi. Testile cobas® Cdiff lisatakse sisekontroll, et aidata tuvastada proove, mis sisaldavad aineid, mis võivad pärssida nukleiinhappe isoleerimist ja PCR-i amplifikatsiooni. Teadaolevad segavad mõjud võivad, kuid ei pruugi piirduda järgmisega.
 - Proovid, mis sisaldavad üle 50 massiprotsendi mutsiini, võivad anda valenegatiivseid tulemusi.
5. Positiivne tulemus näitab *C. difficile* DNA esinemist, kuid mitte tingimata elujõuliste organismide esinemist. Seetõttu ei ole seda testi soovitatav kasutada ravi jälgimiseks või tervenemise hindamiseks.
6. Mutatsioonid või polümorfismid praimerite või sondiga seonduvates piirkondades võivad mõjutada uute või tundmatute variantide avastamist, mille tulemuseks on cobas® Cdiff valenegatiivne tulemus.
7. Testi ennustusväärtus sõltub haiguse levimusest konkreetses populatsioonis.
8. Seda toodet tohivad kasutada vaid cobas® Liat® süsteemi väljaõppe saanud töötajad.

Toimivusnäitajate hindamine

Analüütiline tundlikkus

cobas® Cdiff testi analüütiline tundlikkus (tuvastuspiir ehk LoD) leiti kvantifitseeritud *C. difficile* kultuuride analüüsimisel, mida lahjendati mitmekordse kontsentratsiooni tasemeteni negatiivse rooja taustaga suspensioonides söötmes cobas® PCR Media. Kõiki tasemeid analüüsiti kolme paralleelproovina, iga kord kahte unikaalset partiid cobas® Cdiff analüüsikatsuteid kasutades. Väiksem kontsentratsioon tabavustasemega 100% analüüsiti täiendavate paralleelkatsetega, et kinnitada LoD tase. Kui üldine tabavustase oli väiksem kui 95%, analüüsiti suuremat paneeli kontsentratsiooni täiendavate paralleelkatsetega. Lõplik LoD tase kinnitati vähemalt 21 täiendava paralleelkatsetega. Selle testi tuvastuspiir määratletakse sihtkontsentratsioonina, mida saab $\geq 95\%$ paralleelkatsete analüüsimisel positiivsena tuvastada, mis põhineb halvima reaktiivi partii puhul saadud tulemustel.

Analüütilise tundlikkuse uuringul saadud tulemused on toodud Tab. 11.

Tab. 11. cobas® Cdiff analüüsi LoD (tuvastuspiir)

Tüve ID	Toksinotüüp	REA* tüüp	PFG† tüüp	Ribotüüp	Fenotüüp	LoD (PMÜ/tampoonil)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	P/K	P/K	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Restriksiooni endonukleaasi analüüs. † Impulssvälja geel.

C. difficile genotüüpide määramine

cobas® Cdiff tuvastuspiir kinnitati täiendavat toksinotüüpi esindaval 37 toksigeensel tüvel, analüüsides neid kolm korda kolme paralleelkatsetega tüve kohta tuvastuspiiri ATCC 43255 korral (270 PMÜ/tampoonil). Lahjendused ja analüüsivad proovid valmistati samamoodi, nagu on eelkirjeldatud tuvastuspiiri (LoD) uuringus.

Kõik 37 toksigeenset tüve (Tab. 12) olid selles uuringus 100% positiivsed, mis kinnitab, et cobas® Cdiff suudab määrata need *C. difficile* toksinotüübid.

Tab. 12. Kokkuvõte toksigeense *C. difficile* verifitseerimise tulemustest

	Cdiffi tüvi	Toksinotüüp	Ribotüüp	Tabavustase
1	ATCC# BAA-1382, 630	0	12	100,00%
2	EX 623	I	102	100,00%
3	AC 008	II	103	100,00%
4	2004118, CDC-204118 (NAP-1)	III	27	100,00%
5	SE 844	IIIa	80	100,00%
6	CH6230	IIIc	P/K	100,00%
7	P43	IV	P/K	100,00%
8	55767	IV	23	100,00%
9	2748-06	V	78	100,00%
10	SE 881	V	45	100,00%
11	SE 1203	VI	33	100,00%
12	57267	VII	63	100,00%
13	ATCC# 43598, 1470	VIII	17	100,00%
14	51680	IX	19	100,00%
15	CCUG 8864/STCC20309	X	36	100,00%
16	F15	XII	P/K	100,00%
17	IS 25	XII	56	100,00%

	Cdiffi tüvi	Toksinotüüp	Ribotüüp	Tabavustase
18	R 9367	XIII	70	100,00%
19	R 10870	XIV (uus XIVa)	111	100,00%
20	R 9385	XV (uus XIVb)	122	100,00%
21	SUC36	XVI	78	100,00%
22	No 1313	XVII	232	100,00%
23	K095	XVIII	14	100,00%
24	TR13	XIX	P/K	100,00%
25	TR14	XX	P/K	100,00%
26	CH6223	XXI	P/K	100,00%
27	CD07-468	XXII	P/K	100,00%
28	8785	XXIII (uus IXc)	P/K	100,00%
29	597B	XXIV	131	100,00%
30	7325	XXV	27	100,00%
31	7459	XXVI	P/K	100,00%
32	KK2443/2006	XXVII	P/K	100,00%
33	CD08-070	XXVIII	126	100,00%
34	CD07-140	XXIX	56	100,00%
35	ES 130	XXX	P/K	100,00%
36	WA 151	XXXI	P/K	100,00%
37	173070	XXXII	P/K	100,00%

Täpsus

Viidi läbi asutusesisene uuring kasutades *C. difficile* kultuuri ATCC 43255 paneeli, mis oli lahjendatud negatiivse roojaproovi suspensioonis söötmes **cobas**® PCR Media kontentratsiooni tasemeteni allpool avastamiskiiri (LoD) ja ülevalpool **cobas**® Cdiff avastamiskiiri. Testiti ka ainult negatiivset söötmes **cobas**® PCR Media rooja suspensiooni negatiivset taset. Uuringus kasutati kolme unikaalset **cobas**® Cdiff testi reaktiivide partiid ja kuute instrumenti, kokku 192 seeriat 12 päeva jooksul. Täpsuspaneelide kirjeldus ja uuringukokkuvõte on toodud Tab. 13.

Dispersioonikomponentide analüüs (Tab. 14) näitas, et enamik Ct sihtväärtuste varieeruvusest on tingitud juhuslikest ja instrumendi teguritest (vastavalt 67% ja 32%) kontsentratsioonitasemel tuvastuskiiri juures või selle lähedal. Avastamiskiirist kõrgemal kontsentratsioonitasemel, on suurem osa Ct väärtuse varieeruvusest tingitud juhuslikest ja partiidevahelistest teguritest (vastavalt 58% ja 20%). Tulemused (Tab. 15) näitavad, et Ct sihtväärtuste üldine CV (%) oli 2,4% tuvastuskiiri juures oleva kontsentratsioonitaseme korral ja 2,3% tuvastuskiirist kõrgemal kontsentratsioonitasemel.

Tab. 13. Asutusesisese täpsusuuringu positiivse suhte analüüs

Paneeliliige	N testitud	N positiivsed	Positiivne suhe	95% CL	
				Alumine	Ülemine
Negatiivne	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
< 1 × LoD	48	33	68,8%	54,7%	80,1%
~ 1 × LoD	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
~ 3 × LoD	48	48	100,0%	92,6%	100,0%

LoD = tuvastuskiir

Tab. 14. Ct dispersioonikomponentide analüüs täpsuspaneeli liikmete jaoks

Taseme	Keskmine Ct	Dispersioonikomponendid/protsentuaalne osakaal üldisest				Kokku
		Partii	Seade	Päev	Juhuslik	
~ 1 × LoD	31,8	0,008	0,189	0	0,398	0,595
		1%	32%	0%	67%	100,00%
~ 3 × LoD	30,3	0,097	0,049	0,055	0,274	0,476
		20%	10%	12%	58%	100,00%

LoD = tuvastuspiir

Tab. 15. Ct standardhälvete ja variatsioonikoefitsientide (%) analüüs täpsuspaneeli liikmete korral

Taseme	Keskmine Ct	SD komponendid/CV %				Kokku
		Partii	Seade	Päev	Juhuslik	
~ 1 × LoD	31,8	0,089	0,434	0	0,631	0,771
		0,30%	1,40%	0%	2,00%	2,40%
~ 3 × LoD	30,3	0,312	0,222	0,234	0,524	0,69
		1,00%	0,70%	0,80%	1,70%	2,30%

LoD = tuvastuspiir

Analüütiline spetsiifilisus

cobas® Cdiff testi analüütilise spetsiifilisuse hindamiseks analüüsiti järgnevate organismide paneele:

- 1) 118 liiki bakterit, seent ja viirust, mida võib leida roojaproovides, ja ühte tüüpi inimese rakke (Tab. 16)
- 2) 32 *Clostridium*'i perekonna organismi, kaasa arvatud mittetoksigeenset *C. difficile*'t (Tab. 17)

Clostridium botulinum'i bakteri analüütiline spetsiifilisus prognoositi, kasutades BLAST-programmi GenBanki nukleotiidjärjestuse andmebaasi jaoks, et jäljendada PCR-i amplikoni genereerimise sammu.

Kõik bakterid ja inimese rakud segati 1×10^6 ühikut*/ml kohta ja kõik viirused segati 1×10^5 ühikut*/ml kohta ekvivalentse koguse roojamaatriksiga. Katsed viidi läbi ainult organismidega või kahe toksigeense *C. difficile* isolaadiga, mis esinesid individuaalselt cobas® Cdiff 3-kordse tuvastuspiiri (LoD) juures. Tulemused näitasid, et ükski neist organismidest ei mõjutanud Cdiff sihtmärkide määramist. Ühegi katse korral ei saavutatud *C. difficile* sihtmärgi puudumisel valepositiivset tulemust.

* Bakterite hulk määrati kolooniaid moodustavates ühikutes (PMÜ)/ml, inimeste rakkude hulk määrati rakke/ml ja viiruste hulk määrati TCID₅₀/ml, välja arvatud *Chlamydia trachomatis*, mille hulk määrati IFU/ml.

Tab. 16. Testitud mikroorganismid ja inimese rakud

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 35655	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> ATCC 8750	<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13472	<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Campylobacter coli</i> ATCC 33559	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 43479
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> ATCC 33292	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovariant L2 LGVII454	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter sedlakii</i>
<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Desulfovibrio piger</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus cecorum</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus faecium</i> van A	<i>Enterococcus faecalis</i> van B
<i>Enterococcus gallinarum</i> van C	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700927
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Fusobacterium varium</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Hafnia alvei</i>
HCT-15 inimese rakud	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC BAA-839	<i>Mitsuokella multacida</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 33584	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Salmonella enterica</i> serovariant <i>Choleraesuis</i> ATCC 7001	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> ATCC 13314 (varem tuntud kui <i>Salmonella</i> <i>choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovariant <i>Typhi</i> ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovariant <i>Typhimurium</i> ATCC 14028	<i>Serratia liquefaciens</i> CMCC 169
<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 27592	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100
<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus</i> sp. tüvi V8 ATCC 12973	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Yersinia bercovieri</i>	<i>Yersinia rohdei</i>	Tsütomegaloviirus (HHV5)
Inimese adenoviirus tüüp 41	Inimese Coxsackie viirus A4	Inimese Coxsackie viirus B4
Inimese ECHO viirus 11	Inimese enteroviirus 71	Inimese rotaviirus
Noroviirus GII	-	-

Tab. 17. *Clostridium* perekonna organismid, kaasa arvatud mittetoksigeenne *C. difficile*

<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium bolteae</i>
<i>Clostridium botulinum*</i>	<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium chauvoei</i>
<i>Clostridioides difficile</i> serogrupp B (mittetoksigeenne)	<i>Clostridioides difficile</i> serogrupp I (mittetoksigeenne)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (mittetoksigeenne tüüp Xla)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (mittetoksigeenne tüüp Xla)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (mittetoksigeenne tüüp Xlb)**	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (uue nimetusega <i>Flavonifractor plautii</i>)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium scindens</i>	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Clostridium spiroforme</i>
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 15579	<i>Clostridium sporogenes</i> CCRI 11128	<i>Clostridium symbiosum</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tetani</i>	-

* Põhineb BLAST-programmi analüüsil.

** Kolm mittetoksigeenset Cdiffi tüve (toksinotüüp XI), mida analüüsiti kaetuse uuringus ja mida cobas® Cdiff test ei tuvastanud, on siia tabelisse kaasatud.

Segavad mõjud

Kolmkümmend kaheksat sagedamini kasutatavat ravimit, samuti rooja rasva, täisverd ja mutsiini testiti cobas® Cdiff testiga potentsiaalsete segavate mõjude suhtes. Kõiki aineid testiti kõrgemal tasemest, mida võiks eeldatavalt tampooniga koguda roojaproovist. Segava aine kogus väljendatakse kontsentratsioonina primaarses roojaproovis. Kahte *C. difficile* isolaati lisati 3 korda suuremas kontsentratsioonis kui tuvastuspiir (LoD) cobas® Cdiff testile ja seda kasutati nendes katsetes sihtmärgina. Eksogeensete ainete suhtes segavat mõju ei täheldatud. Rooja rasva puhul ei täheldatud segavat mõju kuni 39%-lise (w/v), täisvere puhul kuni 100%-lise (w/v) ja mutsiini puhul kuni 50%-lise (w/v) kontsentratsiooni korral. Tulemused on kokkuvõtlikult esitatud Tab. 18.

Tab. 18. Segavate ainete testimistulemused

Aine	Kontsentratsioon
Rooja rasv	0,22–39% (w/v)
Täisveri	100% (w/v)
Mutsiin	50% (w/v)
Aleve	100% (w/v)
Mylanta	100% (w/v)
Anusol	100% (w/v)
Dulcolax	23%* (w/v)
Equate Laxative	50%* (w/v)
Equate Hydrocortisone	100% (w/v)
E-Z-HD baariumsulfaat	100% (w/v)
Fleet	100% (w/v)
Glütseriini ravimküünlad	100% (w/v)
Gravoli ravimküünlad	100% (w/v)
Gynol II kontratseptiivid	10%* (w/v)
Imodium	100% (w/v)
Kaopectate	100% (w/v)
K-Y Jelly	100% (w/v)
Metronidasool	100% (w/v)
Mikonasool	100% (w/v)
Mineraalõli	100% (w/v)
Monistat kreem	100% (w/v)
Monistat Complete Care	100% (w/v)
Salv Nystatin	100% (w/v)
Palmitiinhape	100% (w/v)
Pedia Lax	100% (w/v)
Pepto Bismol	25%* (w/v)
Nöiapähkel	50%* (w/v)
Preparation H hemorroidikreem	100% (w/v)
Preparation H hemorroidisalg	100% (w/v)
Dramamine	12,5%* (w/v)
Steariinhape	100% (w/v)
Dokusaatnaatrium	100% (w/v)
Tums	50%* (w/v)
Rektaalsuspensioon mesalasiin	100% (w/v)
Vagisil sügelemisvastane kreem	12,5%* (w/v)
Vankomütsiin	100% (w/v)
Vaseliin	100% (w/v)
Päikesekaitsekreem	100% (w/v)
Monistat vaginaalne suposiit	100% (w/v)
Vaginaalne kontratseptiivne kile	100%
Spermitsiidse ainega kondoomid	100%

Kliiniline toimivus kliinilisi proove kasutades

cobas® Cdiff analüüsi toimivust võrreldi müügiloleva nüüdisaegse nukleiinhapete võrdlustestiga (NAT), kasutades võrdlusmeetodina otsese ja rikastatud kultuuri *C. difficile* isolaatide koekultuuri tsütotoksilisuse analüüsimist. Kahest asutusest prospektiivselt kogutud 442 roojaproovi ja viiest asutusest kogutud 284 külmutatud arhiveeritud külmaproovi analüüsiti **cobas® Cdiff** ja NAT võrdlustestiga. Proovide teine kogus saadeti võrdluslaborisse koekultuuri tsütotoksilisuse analüüsimiseks.

cobas® Cdiff analüüs ja nüüdisaegne nukleiinhapete võrdlustest NAT viidi läbi tootja juhiste järgi. Koekultuuri tsütotoksilisuse test viidi läbi, kasutades otsese ja rikastatud kultuuri protseduure. Lühidalt, igat roojaproovi inokuleeriti alguses eelnevalt vähendatud tsükloseriini-tsefoksiitini-fruktoosi agaril (CCFA-HT) ja CCMB TAL-i puljongsöötmele. CCMB TAL-i puljongsöödet inkubeeriti 48–72 tundi ja kultiveeriti Brucella agaril 5 päeva temperatuuril 35 °C. Kui *C. difficile* kolooniaid oli raske isoleerida, kultiveeriti organismid CCFA-VA agaril. *C. difficile* suhtes kahtlased kolooniad määrati Grami järgi värvimise, aerotalumatuse ja Pro-Diski testi abil ning inokuleeriti anaeroobsesse tükeldatud liha puljongsöötmesse. Seejärel töödeldi anaeroobses tükeldatud liha puljongsöötimest saadud supernatante *C. difficile* toksiini B määramiseks, kasutades koekultuuri tsütotoksilisuse testi (*C. DIFFICILE* TOX-B test, Techlab).

Kombineeritud otseses ja rikastatud kultuuris esines 155 *C. difficile* positiivset proovi (esinemissagedus: 21,3%).

cobas® Cdiff ja NAT-i võrdlustesti toimivus koekultuuri suhtes on toodud Tab. 19 kuni Tab. 21. Otsese kultuuri ning otsese ja rikastatud kultuuri kombineeritud tulemuste korrelatsioon on toodud. „Kombineeritud tulemused“ tähendab seda, et kui kas otsene või rikastatud kultuur või mõlemad on positiivsed, loetakse proovi kombineeritud kultuuri tulemus positiivseks. Ainult siis, kui otsese ja rikastatud kultuuri tulemused on negatiivsed, loetakse proovi kombineeritud kultuuri tulemus negatiivseks.

cobas® Cdiff testi korrelatsioon kultuuri suhtes

cobas® Cdiff testi toimivus võrreldes otsese kultuuri ning kombineeritud otsese ja rikastatud kultuuriga on toodud vastavalt Tab. 19 ja Tab. .

Tab. 19. **cobas® Cdiff** test võrreldes otsese kultuuriga

		Otsene kultuur		
		Positiivne	Negatiivne	Kokku
cobas® Cdiff	Positiivne	129	21	150
	Negatiivne	9	567	576
	Kokku	138	588	726
Tundlikkus	93,5% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 88,1–96,5%)			
Spetsiifilisus	96,4% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 94,6–97,7%)			
Negatiivne ennustusväärtus	98,4% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 97,1–99,3%)			
Positiivne ennustusväärtus	86,0% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 79,5–90,7%)			

Tab. 20. cobas® Cdiff võrreldes otsese ja rikastatud kultuuriga

		Otsene ja rikastatud kultuur		
		Positiivne	Negatiivne	Kokku
cobas® Cdiff	Positiivne	139	11	150
	Negatiivne	14	562	576
	Kokku	153	573	726
Tundlikkus	90,8% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 85,2–94,5%)			
Spetsiifilisus	98,1% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 96,6–98,9%)			
Negatiivne ennustusväärtus	97,6% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 96,0–98,5%)			
Positiivne ennustusväärtus	92,7% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 87,3–95,9%)			

cobas® Cdiff korrelatsioon NAT-i võrdlustestiga

cobas® Cdiff testi toimivuse otsene võrdlus müügiloleva nüüdisaegse NAT-i võrdlustestiga on toodud Tab. 21.

Tab. 21. cobas® Cdiff testi võrdlus nukleiinhappe võrdlustestiga (NAT)

		NAT-i võrdlustest		
		Positiivne	Negatiivne	Kokku
cobas® Cdiff	Positiivne	145	5	150
	Negatiivne	6	570	576
	Kokku	151	575	726
Positiivne ühilduvus	96,0% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 91,6–98,2%)			
Negatiivne ühilduvus	99,1% (täpne kahepoolne 95% usalduspiir on 98,0–99,6%)			

Kehtetute määr

cobas® Cdiff kehtetute määr arvutati 978 individuaalse kliinilise proovi analüüsimise tulemuse põhjal, mis hõlmas 726 korrelatsiooniuuringu proovi. 978 analüüsitud proovist andsid 2 kehtetud cobas® Cdiff tulemused. Uuesti analüüsimisel andis üks kahest proovist kehtiva tulemuse ja teine jäi kehtetuks. Seetõttu oli cobas® Cdiff esialgne kehtetute määr selles proovirühmas 0,2% ja kehtetute määr pärast uuesti analüüsimist oli 0,1%.

Veakoodid

Tab. 22 kirjeldatud veakoode võib esitada tulemuste aruandel vastavalt analüüsi tulemuste tõlgendamisele ja arvutusprotsessile.

Tab. 22. Veakoodid ja definitsioonid

Veakood	Proov	Negatiivne kontroll (Add Lot)	Positiivne kontroll (Add Lot)
r0	IC negatiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat	IC negatiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat	IC negatiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff on positiivne, samal ajal kui IC on negatiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat	P/K	Cdiff ja/või IC on negatiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat
FP	P/K	Cdiff on positiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat	P/K
g0	P/K	P/K	Cdiff on negatiivne või kehtetu. Korrake tööseeriat
g1			
g3			
g4			
x5	Ebapiisav proovikogus	Ebapiisav proovikogus	Ebapiisav proovikogus

Märkus*. Veakood r3 ei ilmu positiivse ja negatiivse kontrolli korral.

Märkus**. Veakood x4 ei ilmu positiivse kontrolli korral (Add Lot). Positiivse kontrolli korral saab x4 veakoodi käivitada alles siis, kui rike juhtub täiendavate positiivse kontrolli tööseeriade ajal peale partii lisamise protseduuri (vt jaotist „Täiendavate kontrollanalüüside tegemine“).

Lisateavet veakoodide kohta saab selle süsteemi **cobas**® Liat® kasutusjuhendist.

Lisateave












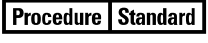

















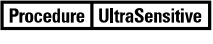






















Testi olulisemad omadused

Proovituüp	Formeerumata roojaproovid
Nõutud proovikogus	Igas komplektis cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit on 4,3 ml söödet cobas ® PCR Media; cobas ® Cdiff analüüsiks on seda vaja minimaalselt 0,2 ml.
Analüüsi kestus	Tulemused on saadaval umbes 20 minutiga peale proovi laadimist süsteemi.
Analüütiline tundlikkus	45 kuni 90 PMÜ/tampoonil sõltuvalt isolaadist
Spetsiifilisus	Ristreaktsioon 149 lähedalt seotud organismi või organismidega, mida tavaliselt leidub roojaproovides
Kaetus	Kõik teadaolevad <i>C. difficile</i> tüved (toksinotüübid 0~XXXI, välja arvatud mittetoksigeensed toksinotüübid XI), kaasa arvatud BI/NAP1/027 hüpervirulentne epideemiline tüvi

Sümbolid

Roche'i PCR diagnostikatoodete märgistamisel kasutatakse järgmisi sümboleid.

Tab. 23. Roche'i PCR diagnostikatoodete märgistamisel kasutatavad sümbolid

 Age/DOB Vanus või sünniaeg	 Seade, mis ei ole ettenähtud patsiendi lähedal testimiseks	 QS IU/PCR QS IU PCR-reaktsiooni kohta, kasutage tulemuste arvutamisel QS rahvusvahelisi ühikuid (IU) PCR-reaktsiooni kohta.
 SW Lisatarkvara	 Seade, mis ei ole ettenähtud enesetestimiseks	 SN Seerianumber
 Assigned Range [copies/mL] Etteantud vahemik (koopiat/mL)	 Edasimüüja (Märkus. Sümboli all võib olla määratletud vastav riik/piirkond.)	 Site Uuringukoht
 Assigned Range [IU/mL] Etteantud vahemik (IU/mL)	 Mitte korduskasutada	 Procedure Standard Standardne protseduur
 EC REP Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses	 Naine	 STERILE EO Steriliseeritud etüleenoksiidi kasutades
 BARCODE Võõtkoodi andmeleht	 Ainult IVD toimivuse hindamiseks	 Hoida pimedas
 LOT Partii number	 GTIN Globaalne kaubaartikli kood	 Temperatuuripiir
 Bioloogilised riskid	 Maaletooja	 TDF Katsekirjeldusfail
 REF Tootekood	 IVD Meditsiiniline <i>in vitro</i> diagnostikavahend	 Siit üles
 CE-vastavusmärgis; see seade vastab meditsiinilisele <i>in vitro</i> diagnostikavahendile kohaldatavatele CE-märgise nõuetele.	 LLR Määratud vahemiku alampiir	 Procedure UltraSensitive Ülitundlik meetod
 Collect Date Kogumise kuupäev	 Mees	 UDI Seadme unikaalne identifikaator
 Enne kasutamist lugege juhendit	 Tootja	 ULR Määratud vahemiku ülempiir
 Piisab <n> testiks	 CONTROL - Negatiivne kontroll	 Urine Fill Line Uriini täitejoon
 CONTENT Komplekti sisu	 NON STERILE Mittesteriilne	 Rx Only Ainult USA-s: seadet on föderaalsete alusel lubatud müüa ainult arstile või arsti tellimusel.
 CONTROL Kontroll	 Patsiendi nimi	 Kasutustähtaeg
 Tootiskuupäev	 Patsiendi number	
 Seade patsientide vahetus läheduses testimiseks	 Rebige siit	
 Seade enesetestimiseks	 CONTROL + Positiivne kontroll	
 QS copies / PCR QS koopiat PCR-reaktsiooni kohta, kasutage tulemuste arvutamisel QS koopiat PCR-reaktsiooni kohta.		

Tehniline tugi

Tehnilise toe (abi) saamiseks pöörduge palun oma kohaliku sidusettevõtte poole:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tootja ja importija

Tab. 24. Tootja ja importija



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Tehtud USAs



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Kaubamärgid ja patendid

Vt <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Autoriõigus

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Viited

1. Bartlett JG, Chang TW, Moon N, Onderdonk AB. Antibiotic-induced lethal enterocolitis in hamsters: studies with eleven agents and evidence to support the pathogenic role of toxin-producing Clostridia. *Am J Vet Res.* 1978;39(9):1525-1530.
2. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. Clostridium difficile and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet.* 1978;1(8073):1063-1066.
3. Leffler D.A., Lamont J.T. Clostridium difficile Infection. *N Engl J Med* 2015; 372:1539-1548.
4. Bartlett J. G. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med.* 2002;346(5):334-9.
5. Vindigni S. M, Surawicz C. M. C. difficile Infection: Changing Epidemiology and Management Paradigms. *Clinical and Translational Gastroenterology.* 2015; 6, e99; doi:10.1038/ctg.2015.24.
6. Hensgens M. P., Keessen E. C., Squire M. M., Riley T. V., Koene M. G., de Boer E. Clostridium difficile infection in the community: a zoonotic disease? *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(7):635-45.
7. Kelly C. P., LaMont J. T. Clostridium difficile--more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008;359(18):1932-40.
8. Wolfhagen M. J., Torensma R., Fluit A. C., J Verhoef. Toxins A and B of Clostridium difficile. *FEMS Microbiol Rev.* 1994;13(1):59-64.
9. Johnson S., Sambol S. P., Brazier J. S., Delmee M., Avesani V., Merrigan M. International typing study of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile variants. *J Clin Microbiol.* 2003;41(4):1543-7.
10. Brecher S. M., Novak-Weekley S. M., E Nagy. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infections: there is light at the end of the colon. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2013;57(8):1175-81.
11. Surawicz C. M., Brandt L. J., Binion D. G., Ananthakrishnan A. N., Curry S. R., H Gilligan P. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. *The American journal of gastroenterology.* 2013;108(4):478-98; quiz 99.
12. Curry SR. Clostridium difficile. *Clinics in Laboratory Medicine.* June 2017; 37(2):341-6.
13. Sloan L. M., Duresko B. J., Gustafson D. R., Rosenblatt J. E. Comparison of real-time PCR for detection of the tcdC gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6):1996-2001.
14. Deshpande A., Pasupuleti V., Rolston D. D., Jain A., Deshpande N., Pant C. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of Clostridium difficile in the stool samples of patients with suspected Clostridium difficile Infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011;53(7):e81-90.
15. Kufelnicka A. M., J Kirn T. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis.* 2011;52(12):1451-7.
16. Tenover F. C., Baron E. J., Peterson L. R., H Persing D. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? *J Mol Diagn.* 2011;13(6):573-82.
17. Peterson L. R., Mehta M. S., Patel P. A., Hacek D. M., Harazin M., Nagwekar P. Laboratory testing for Clostridium difficile infection: light at the end of the tunnel. *Am J Clin Pathol.* 2011;136(3):372-80.

18. Monaghan T., Boswell T., Mahida Y. Recent advances in Clostridium difficile-associated disease. Gut. 2008;57(6):850-60.
19. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990;93:125-128.
20. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumendi redaktsioon

Dokumendi redaktsiooniteave	
Doc Rev. 5.0 04/2024	<p>Täiendatud IVDR-i vastavuse tagamiseks.</p> <p>Kooskõlastatud ja uuendatud viited ja protseduurid analüsaatori cobas® Liat® Analyzer tarkvara 3.3 jaoks.</p> <p>Uuendatud ohtude teave.</p> <p>Lisati ettenähtud kasutuse teave.</p> <p>Tabelit 18 värskendati, et lisada kontsentratsiooniühikud ja eemaldada üleliigne teave.</p> <p>Värskendati jaotise Kaetus päist jaotise <i>C. difficile</i> genotüüpide määramine päisega.</p> <p>Parandati trükivigu ja üldisi selgitusi.</p> <p>Uuendati ühtlustatud sümbolite lehte.</p> <p>Uuendatud jaotus Kaubamärgid ja patendid, sh link.</p> <p>Lisati teave seoses cobas® Liat® ülekandepipeti pakendi kirjelduse ja kasutamiseks (12 pipetti/pakend, katalooginr 09329676001)</p> <p>Küsimuste tekkimise korral võtke ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.</p>